E/CONF.39/C/437
1 Nov.1962
FRANCAIS
ORIGINAL : ANGLAIS

CONFÉRENCE DES NATIONS UNIES
SUR L'APPLICATION DE LA SCIENCE ET DE LA TECHNIQUE
DANS L'INTÉRÊT DES RÉGIONS PEU DÉVELOPPÉES

Point de l'ordre du jour : C.5.1

Sénégal

CONSERVATION DES VIRUS VACCINS PAR LYOPHILISATION (CAS PARTICULIER DE LA LYOPHILISATION SOUS CONDITIONS TROPICALES)

Par Yves GILBERT,
Docteur Vétérinaire,
Chef du Service de Virologie du Laboratoire National
de Recherches vétérinaires de Dakar, Sénégal

Les mémoires rédigés à l'intention de la Conférence des Nations Unies sur l'application de la science et de la technique dans l'intérêt des régions peu développées sont des documents de travail. Ils sont publiés tels qu'ils ont été présentés et les assertions et opinions qu'ils contiennent sont celles de leurs auteurs.

NOTES

1. Les mémoires choisis pour être présentés en séance générale pourront être obtenus à la Conférence dans les langues officielles suivantes des Nations Unies: anglais, espagnol, français et russe.

2. Les mémoires choisis pour être présentés en séance spéciale pourront être obtenus à la Conférence dans l'une seulement de ces langues officielles.

3. Les résumés qui ont été rédigés pour tous les mémoires par les auteurs de ceux-ci pourront être obtenus à la Conférence dans les langues officielles suivantes des Nations Unies: anglais, espagnol, français et russe.

4. Préalablement à la Conférence, les mémoires et les résumés ne feront pas l'objet d'une distribution générale mais d'un tirage restreint destiné aux délégations des gouvernements et autres participants officiels. La publication et la distribution générale des actes de la Conférence s'effectueront conformément aux règles et pratiques agréées par le Comité des publications des Nations Unies.

CONSERVATION DES VIRUS VACCINS PAR LYOPHILISATION
(CAS PARTICULIER DE LA LYOPHILISATION SOUS CONDITIONS TROPICALES)

Yves GILBERT, docteur vétérinaire
chef du service de virologie du Laboratoire national de recherches vétérinaires de Dakar, (Sénégal)

Avant propos :

La lutte contre les maladies épizootiques du bétail en régions tropicales recourt de plus en plus à l'utilisation de virus vaccins, auxquels on reconnaît de multiples avantages sur les plans de l'efficacité, de la durée de l'immunité conférée et surtout du prix de revient.

Ces produits biologiques sont particulièrement fragiles, et la durée de conservation de leur activité serait d'une brièveté incompatible avec les délais de transport et d'utilisation s'il n'était fait appel à la méthode de cryodessiccation (lyophilisation) pour assurer leur stabilisation.

Mais la réalisation de la cryodessiccation, parfaitement au point dans les régions tempérées, se heurte dans la zone intertropicale à des difficultés liées à l'ambiance.

En effet, cette zone est caractérisée essentiellement par une température moyenne élevée (les maxima dépassent souvent 40°C) et en certaines saisons, une très forte hygrométrie.

A ces conditions climatiques défavorables s'ajoutent les effets du sous équipement que connaissent nombre de territoires.

Le présent mémoire résume des observations récueillies pendant plusieurs années de pratique, fait connaître les difficultés rencontrées et les solutions possibles.

I - Difficultés rencontrées.

Lyophiliser un produit, c'est, après l'avoir congelé, en extrair l'eau par sublimation sous vide. Il importe donc de disposer d'une sourc de froid, des moyens de produire et entretenir le vide, et d'appliquer convenablement ces procédés à la réalisation des opérations successives de congélation et dessiccation afin de respecter au maximum les qualités essentielles du produit. Nous envisageons donc tour à tour les difficult rencontrées sous conditions tropicales dans la production du froid et du vide, puis au cours de l'opération elle-même.

a) Le froid.

Celui-ci peut être produit économiquement par les seules machine frigorifiques. La glace carbonique n'est pas, sauf exception, fabriquée sur place, et sa préparation à partir du gaz carbonique liquide revient un prix prohibitif. Les gaz liquéfiés (air et azote liquides) sont encor d'un emploi restreint et coûteux, applicable seulement aux travaux de recherche, non à une production à l'échelle semi industrielle.

Sous conditions tropicales, les machines frigorifiques à compres seur fonctionnent avec un mauvais rendement en raison de la température des fluides de refroidissement air ou eau. Celle-ci en particulier attei couramment 30 à 35°C et l'on observe sur le circuit de refoulement du fluide frigorigène des pressions considérables. La production en frigori subit une baisse sensible.

Les apports de chaleur par rayonnement et conduction sont accrus par l'élévation de la température ambiante, et les performances des appa reils sont nettement inférieures à celles enregistrées en climats tempér

Il résulte de ce fait une fatigue générale de l'appareillage (compresseur surtout) se manifestant par de fréquents incidents que comp quent les difficultés à se procurer des pièces de rechange et la rareté des spécialistes qualifiés dans la technique des basses températures.

b) Le vide.

Le problème de la réalisation et de l'entretien du vide est doub Il comporte en effet l'élimination :

a) des gaz permanents (air en particulier) emplissant l'enceinte où s'effectue la lyophilisation, ou pouvant y pénétrer par des défauts d'ét chéité ;

b) de la vapeur d'eau produite par la sublimation de la glace et do l'évacuation ne peut être assurée par les pompes.

En ce qui concerne les gaz permanents, la production du vide ne pose pas sous conditions tropicales de problèmes particuliers.

L'élimination de la vapeur d'eau est normalement assurée par une paroi froide, jouant le rôle de pompe à grand débit, car les desséchants chimiques sont à peu près abandonnés.

L'efficacité de ce piège dépend en grande partie de sa température. Plus celle-ci est basse, plus le transfert de la vapeur émise par le produit maintenu à une température déterminée est rapide. Lorsqu'on dessèche un produit pour lequel la sublimation peut s'effectuer à température relativement élevée (-15, -20°C) une vitesse de dessiccation satisfaisante peut être obtenue avec un piège à -40°C. Mais s'il s'agit de matériels à bas point eutectique (-25 à -30°C), et certains produits à dessécher sous conditions tropicales offrent cette particularité, il est nécessaire de disposer d'une paroi froide à très basse température (-60°C par exemple), pour maintenir une pression différentielle suffisante et obtenir la dessiccation dans un temps raisonnable.

Compte tenu des conditions adverses de production du froid, les appareils actuellement construits permettent d'obtenir ici une température au niveau du piège supérieure de 5 à 10°C à celle annoncée pour les régions tempérées. La durée de la dessiccation en est sensiblement prolongée.

L'évaporateur à détente directe semble le moins affecté par les conditions tropicales. Des températures basses peuvent être atteintes par l'emploi d'un seul étage de compression, mais on ne dispose pas d'un volant de froid, comme dans le cas du système à détente indirecte, où l'évaporateur du groupe frigorifique refroidit une masse de fluide (alcool par exemple). Il est alors nécessaire de recourir à des étages multiples de compression pour obtenir de basses températures. Le fluide refroidi peut aussi être utilisé pour la congélation rapide des produits, et la limitation du réchauffement du matériel en fin de dessiccation. Ce dernier résultat n'est acquis qu'au prix du réchauffement du fluide et par conséquent du piège. Il serait préférable d'alimenter en fluide froid le condenseur et la cuve à dessiccation par des groupes frigorifiques différents, mais cette solution accroît considérablement le prix de revient des appareils.

c) Congélation.

La vitesse de congélation des produits à dessécher conditionne en partie la conservation de leur activité. Plus rapide est la congélation, meilleur est le titre en virus. Il faut donc disposer d'une source de froid à basse température, et d'un dispositif permettant de réaliser la congélation rapide du produit.

La plupart des appareils étant destinés à la lyophilisation du plasma, leurs installations de congélation rapide sont prévues pour les flacons de grand volume. Par contre la congélation rapide de produits répartis en ampoules ou flacons type "pénicilline" n'est réalisable qu'en bulot, dans un bain d'alcool où sur des étagères fluidiées.

BEST COPY AVAILABLE

Il n'est pas possible de congeler en coquille, et la durée de congélation s'en trouve sensiblement accrue. De plus, l'épaisseur du produit augmente sensiblement la durée de dessiccation.

Une congélation rapide offre aussi l'avantage de donner au produit une porosité plus grande par la multiplication des cristaux de glace et leur faible dimension. La réhydratation du produit s'effectue alors dans de meilleures conditions.

d) Dessiccation.

Elle s'effectue en deux temps. Dans le premier, une intense sublimation tend à abaisser la température du produit, auquel il faut fournir de la chaleur pour éviter l'arrêt de la dessiccation par suite d'un refroidissement trop intense.

Ce temps se termine lorsque la teneur en humidité, résiduelle du produit avoisine 5 %. La seconde phase commence alors. Le produit, même en l'absence de tout chauffage, n'étant plus refroidi par la sublimation de la glace, tend à se rechauffer, et à atteindre la température de l'ambiance. Pour certains produits, comme le plasma, il n'y a aucun inconvénient à laisser se rechauffer le produit, et l'on peut même le porter à une température de +40°C, afin d'accélérer l'évaporation des dernières traces d'eau. Par contre, en ce qui concerne les virus-vaccins, certains sont très sensibles à l'action de la chaleur, et un réchauffement à la température de l'ambiance (+25 à +35°C) pendant quelques heures suffit à diminuer sensiblement le nombre d'unités virulentes.

Des expériences portant sur du virus bovipestique lapinisé ont montré qu'une dessiccation finale de 8 heures à la température ambiante entraînait une perte d'activité d'environ 90 %.

Par contre, si la dessiccation finale était menée pendant 16 heures à +4°C la baisse du titre du virus n'excédait pas 20 %.

Il est donc nécessaire de disposer d'appareils permettant de maintenir le produit à une température déterminée, supérieure ou inférieure à l'ambiance.

e) Problèmes Connexes.

Ils concernent en particulier l'emploi de milieux protecteurs, destinés à limiter au minimum la perte d'unités virulentes qui survient pendant la lyophilisation. De nombreuses formules ont été proposées, mais il semble qu'il faille s'en tenir, en ce qui concerne les virus vaccins, à l'emploi du sérum (l'espèce en importe peu) comme milieu de base, auquel on adjoint un sucre (glucose, ou mieux lactose) pour faciliter la redissolution, et des phosphates pour tamponner le milieu.

Tout milieu destiné à la dilution des suspensions mères de virus en vue de leur lyophilisation devra donc renfermer une proportion de sérum variant de 50 à 80 %.

Par ailleurs, le conditionnement du produit s'achève par la fermeture des récipients sous vide, ou en atmosphère inerte.

Les vaccins fragiles sont jusqu'ici, en règle générale, conservés sous un vide plus ou moins poussé. Quelques essais de conservation sous azote n'ont abouti qu'à des mécomptes, la viabilité du produit étant abolie après une courte période.

Ces échecs semblent imputables à la mauvaise qualité de l'azote employé, renfermant une proportion notable d'impuretés.

L'emploi récent d'azote rectifié, importé d'Europe, promet une conservation équivalente à celle observée sous vide.

2 - Améliorations possibles.

Face aux difficultés rencontrées, il a été nécessaire de trouver des palliotifs, afin d'obtenir des appareils à lyophiliser conçus pour des régions tempérées le meilleur rendement possible dans les conditions tropicales.

Certains appareils présentent des caractéristiques qui leur permettent d'éviter les difficultés signalées :
La congélation s'effectue dans un appareil spécial , comportant une cuve à alcool refroidi à -50°C par un groupe frigorifique puissant spécialement affecté à cet usage.

La dessiccation est réalisée dans un autre appareil, où le piège à BUEMS, constitué par un évaporateur tubulaire tapisse la paroi interne de la cuve de dessiccation, le produit étant placé au centre. Cette disposition évite tout échange de chaleur entre l'ambiance et le produit, et la température de celui-ci est seulement déterminée par le chauffage qui lui est appliqué.

Enfin, les performances des groupes frigorifiques sont améliorées par l'adjonction d'un système refroidisseur d'eau qui permet le fonctionnement des appareils dans des conditions analogues à celles des pays tempérés.

Un tel appareil est évidemment l'outil idéal en régions tropicales, mais son prix de revient particulièrement élevé en restreint l'emploi.

C'est pourquoi, lorsque des appareils moins perfectionnés sont utilisés, il peut être conseillé de les placer dans une chambre maintenue à la température maxima que peut supporter le produit en fin d'opération sans dénaturation.

En effet, les apports excessifs de chaleur dus à la température ambiante sont supprimés. Le refroidissement des condenseurs s'effectue dans d'excellentes conditions, soit par de l'air à +8°C soit par de l'eau rafraîchie par un dispositif simple (serpentin à ailettes - type radiateur d'automobile - placé sous l'évaporateur de la chambre froide). Par la diminution puis l'arrêt du chauffage à la fin de la première phase de dessiccation on limite le réchauffement du produit au maximum compatible avec sa conservation, qui est la température de l'ambiance. En fin d'opération, l'appareil est rempli d'azote rectifié et le produit se trouve à la même température que la chambre, ce qui évite toute condensation. Les ampoules ou flacons sont bouchées sommairement au caoutchouc, puis scellés définitivement sous vide modéré.

Les dépenses d'équipement sont élevées : isolation de la chambre, équipement frigorifique puissant en raison du fonctionnement des appareils à l'intérieur, mais les dépenses de fonctionnement sont restreintes et largement compensées par les avantages d'un travail en milieu favorable. Les appareils ne semblent nullement affectés par le séjour à cette température : un appareil à lyophiliser fonctionne depuis six ans dans ces conditions et a effectué sans incident notable plus de dix mille heures de marche.

3 - Limites de la méthode.

La stabilisation par lyophilisation des produits biologiques n'est cependant pas absolue, et il est nécessaire d'en reconnaître les limites.

En effet, si certains produits (nous envisageons particulièrement les vaccins bactériens ou les virus) supportent après dessiccation des températures relativement élevées, d'autres restent particulièrement sensibles à la chaleur même en cet état. Les virus-vaccins bovipestiques modifiés exigent ainsi une conservation constante sous glace.

Sans nul doute, ils pourraient supporter une température légèrement supérieure, mais la présence de la glace constitue un critère facile du degré thermométrique. Cette nécessité de conservation sous froid est le principal facteur limitant actuellement l'emploi des virus-vaccins, car l'établissement d'une chaîne du froid pose de sérieux problèmes en régions tropicales. Les zones d'élevage extensif sont caractérisées par un faible peuplement humain, des voies de communications précaires et des distances considérables à parcourir d'un centre à l'autre. Le ravitaillement en glace des équipes de vaccination demande une organisation rigoureuse, des moyens de transport adéquats et entraîne des dépenses élevées, compensées il est vrai par l'abaissement du prix de revient des vaccins et une durée de protection accrue.

BEST COPY AVAILABLE

- C O N C L U S I O N -

La stabilisation des virus-vaccins par lyophilisation est d'une utilité indiscutable dans les régions subtropicales.

Mais les conditions de climat (chaleur et humidité) créent quelques difficultés à la mise en oeuvre du procédé.

La température ambiante élevée diminue le rendement des groupes frigorifiques, et accroît les pertes en unités virulentes résultant du processus de dessiccation.

Pour obtenir de bons résultats, il est nécessaire de recourir à certains types d'appareils dont les caractéristiques permettent d'échapper aux inconvénients découlant du climat, ou de créer autour des autres types d'appareils une ambiance convenable, en les plaçant dans une chambre réfrigérée.

D'excellents résultats ont été obtenus par ce simple système qui ménage les appareils et diminue considérablement les pertes en unités virulentes au cours de la lyophilisation.

BEST COPY AVAILABLE

1540 F - Nov. 1962 - 1,000